第12卷 第4期　　昆 虫 学 报　　Vol. 12, No. 4
1963 年 9 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Sept., 1963

桑叶与蚕体內有机酸、氨基酸以及糖的消长关系*

刘士賢　方定坚　黄自然**
黄楚輝　朱綺雯
（广东省农业科学院）

摘要　本研究主要应用滤紙色层分析方法，从桑叶与蚕体內有机酸、氨基酸以及糖的消长关系，探討不良桑叶品質导致蚕儿健康程度下降的若干生理机制。

在实驗中，采用不同肥、水、密植条件下栽培的軟嫩桑叶和成熟桑叶作为供試飼料，分别給予五龄蚕儿，同时期分析各类型桑叶及蚕体內胃液、血液和蚕粪的有关化学成分。

研究結果表明，軟嫩桑叶中含有多种游离有机酸，計有較多量的草酸和延胡索酸以及含量較少的酒石酸、檸檬酸与琥珀酸。延胡索酸的存在，一般可作为不成熟桑叶的一个标志。成熟桑叶中以含有多量的琥珀酸为特征，也含有較少量的草酸。蚕儿吃了軟嫩叶之后，在五龄前半期，蚕粪中的草酸含量显著增多，在后半期，正当蚕粪草酸含量減少时，蚕儿胃液中突然出現較多量的草酸，其健康程度显著下降，而后，发現蚕儿血液中苹果酸的含量大大減少，甚至缺乏。

桑叶中的含糖量依据其成熟程度为轉移，軟嫩叶中含有的蔗糖、果糖和葡萄糖量明显較少。蚕儿吃了軟嫩叶之后，蚕体內胃液与血液中的含糖量也大大降低，这种貧糖現象一直反映到蛹期和蛾期，导致蚕机体生命力的降低。

桑叶中发現有十四种游离氨基酸，軟嫩叶中的氨基酸特別丰富，成熟叶中則显著減少。軟嫩叶中含有多量的游离氨基酸对蚕健康程度沒有直接明显的危害，但病蚕胃液与血液中的游离氨基酸含量却有減少的現象。

桑叶品質对养蚕稳定性的重要作用，已經广泛地引起了蚕业生产和科学研究方面的重視。关于叶質与桑蚕的关系，Демяновский (1933,1958)、有間 (1958)、Филиппович (1960)等曾經作了較系統的研究，并且由庫玆遑佐夫(1948)、欽俊德 (1962) 作了全面系統的評述。但是，叶質影响蚕儿健康程度的生化机制尙需进一步研究。

近年来，应用滤紙色层分析方法，对桑叶与蚕体內的有机酸 (Школьник; 1953 和吉田，1955、1956)、氨基酸(近藤；1957、三好，1959 和 Якушкина; 1958)以及桑树枝条中的糖分(柏田，1955)进行了不少的研究，这对今后深入研究叶質与蚕儿的关系提供了一定的基础。

在我們研究桑叶品質与养蚕关系的过程中，常常发現密植丰产桑叶与不成熟的嫩叶会誘发蚕病(刘士賢等，1961、1962)。在这些不良的叶質中，究竟哪些生化成分才是致使蚕儿发病的主要因素？这是亟需研究的問題。本文中，我們試图从研究桑叶与蚕体內有机酸、氨基酸以及糖的相互消长关系，来探索桑叶品質影响蚕儿健康程度的生化机制。

---

* 本文承华南农学院赵善欢教授和楊邦杰教授审閱指导，并在研究工作中得到本院苏大道先生的帮助，特此志謝！

** 系华南农学院教师，参加本研究工作。

（本文于 1963 年 2 月 1 日收到）。

一、方 法

試驗的材料，采用肥丰水足的密植丰产桑叶和相当于一般生产水平的旱地普通桑叶二种飼料,幷按桑叶叶位分为不成熟嫩叶与成熟叶二类。将这些类型的飼料,在五龄分别飼与蚕儿。同一时期內分析各种类型的桑叶、蚕粪、蚕儿胃液以及蚕儿血液中的有机酸、氨基酸以及糖的成分和含量。各处理类型的蚕儿均分为六小区（每区 100 头五龄起蚕），其中三小区供蚕生命力調查，另三小区供每日分析测定之用。試驗时期从 1962 年 3—8 月初,共試驗五造次。供試蚕品种为九白海×115 南。

桑叶与蚕粪均为新鮮采样,蚕儿胃液用低压（6V）电流麻痹法取出，蚕儿血淋巴用刀割法取出。

我們所用的有机酸层析方法(黄自然等，1962)是綜合 Школьник（1953)、Петров-Спиридонов（1957)、許嘉祥(1957)、Магницкий（1959）等紙上层析方法进行的。先用 0.05N H_2SO_4 浸提,桑叶的浸提浓度为 1:3（W/V),蚕粪与胃、血液均为 1:4(W/V、V/V)。浸提 24 小时后,取其浸提濾液,幷浓縮至 1/2,然后用幷列三点滴注法将 0.025 毫升浸提液滴注于层析用的濾紙上。层析的溶剂系統为正丁醇、甲酸和水，比例为 6:1:2.7 V/V。在密閉的玻璃长筒內上行层析約 8 小时,将濾紙取出,置于热烘箱（80—90℃）內 5—6 小时,使其甲酸溶液充分排除。最后,用 0.04% 溴甲酚蓝酒精溶液显色。

氨基酸的浸提方法与有机酸相同。滴注量为 0.05 毫升,幷列滴注六点,便于定量。溶剂系統为正丁醇、甲酸与水，比例为 15:3:2 V/V(陈丽筠 1958)。用上行层析展层二次，展层延續时間为 20 小时。显色剂为水合茚三酮（Пасхина 1955)。各种氨基酸的定量，按 Giri（1953）法测定。将色斑剪碎,溶于 10 毫升硫酸銅酒精溶液(每 100 毫升 75% 酒精中加入 5 克 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$,幷濾去沉淀)中,用波长 500—520 mμ 的双光电池比色計测定。其中若干氨基酸采用混合定量法（Андреева 1961 和 Кретович 1961)。

糖的浸提用 80%酒精溶液,桑叶的浸提浓度为 1:4(W/V),胃液为 1:2(V/V)。浸提 24 小时后,将桑叶浸提液浓縮至 1/2,胃液浸提液浓縮至 1/4。滴注量桑叶为 0.025 毫升，胃液为 0.05 毫升，均以幷列二点滴注。溶剂系統为正丁醇、乙酸和水，比例为 4:1:5 (V/V)(Williams, 1951)。采用上行层析,重复展层三次,展层延續时間为 72 小时。显色剂分别采用尿素磷酸酒精溶液（Bourdu 1953）和对甲氧基苯胺（Mukher, 1952）以及苯胺苯二甲酸試剂（Paitridge, 1948)。糖的色层定量按 Павлинова（1960）法测定。按照已显色的二边色斑位置,剪下中間未經显色的糖斑紙块,經蒸餾水浸提浓縮，然后用蒽酮法（Павлинова, 1957）在 620 mμ 波长的光电比色計中测定。

以上定性层析均用各种标准酸和标准糖同时层析对照,通过 R_f 值,幷根据各种酸、糖的层析色斑特点来核对鉴定各种成分。氨基酸和糖的层析定量，均通过标准酸和标准糖的标准工作曲綫查核計算。层析濾紙均为汕头濾紙。

此外，蚕粪、胃液的总糖量以及血液中的糖元量，同样应用 Павлинова（1957）和 Захарьин（1958）蒽酮法光电比色测定。

本文引用的数据和結果,主要属第五造(七月)的試驗資料。試驗处理共分六个类型：

1.“密上側嫩芽”区：密植桑上部側枝嫩叶处理区；

2."密上側下"区：密植桑上部側枝成熟叶处理区；
3."密下側嫩芽"区：密植桑下部側枝嫩叶处理区；
4."密下側下"区：密植桑下部側枝成熟叶处理区；
5."旱側嫩芽"区：普通桑側枝嫩叶处理区；
6."旱側下"区：普通桑側枝成熟叶处理区。

二、研 究 結 果

根据两年来的养蚕实驗結果表明，不同桑叶品质对蚕生命力有显著的影响。飼与不成熟的嫩叶，蚕儿便不同程度地发病，特别是在飼与密植丰产桑的情况下，蚕儿发病程度更为严重。在广东第四至六造，誘发的病蚕率在28.93—75.13% 范围内，因造别而异。病蚕大多数属軟化病，其中严重者尙出現"叶质中毒症"，蚕儿口吐胃液，呈痙攣状，体内消化不良而病死(刘士賢等，1961)。玆将第五造試驗的蚕生命力結果引証于表1。

表1　不同类型桑叶养蚕的生命力

試 驗 处 理	密上側嫩芽区	密上側下区	密下側嫩芽区	密下側下区	旱側嫩芽区	旱側下区
五龄蚕生命力%	24.87	75.71	4.85	80.29	75.37	99.28
蛹期生命力%	46.68	68.04	20.32	80.54	67.18	91.84
虫蛹統一生命力%	11.61	51.53	0.99	64.67	50.63	91.18

由表1可知，密植桑嫩叶区的生命力特别低，而其成熟叶区的生命力则較高；旱地普通桑嫩叶区的生命力，虽較其成熟叶为低，但仍相当于密植桑成熟叶区的水平。为什么不良叶质会导致蚕生命力的降低？对于这个問題，我們可以从有机酸、氨基酸以及糖的生化成分的角度来闡明。

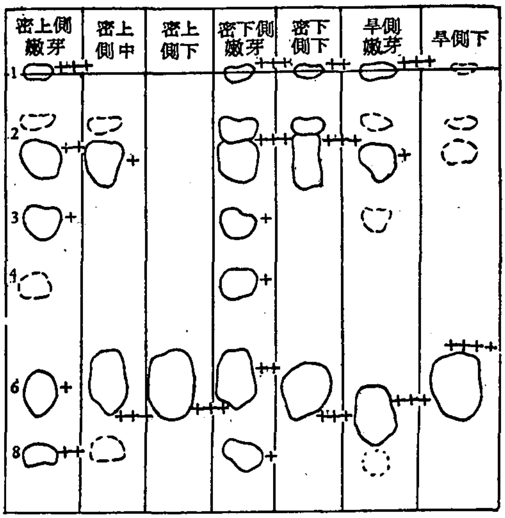

图1　桑叶中的游离有机酸

1 未知酸；　2 草酸；　3 酒石酸；　4 檸檬酸；　6 琥珀酸；　8 延胡索酸。含量示意：++++ 很多；+++ 多；++ 較多；+ 稍多；无标記虛綫：含量甚少。

(一)桑叶与蚕体內游离有机酸的消长关系

1. 不同类型桑叶中的游离有机酸　桑叶中含有的非揮发性游离有机酸，依据不同叶位和昼夜間不同时刻而轉移（黄自然等）。嫩叶中含有較多的有机酸，而成熟叶的有机酸则較少。从图1中可以看出，不成熟的嫩叶中含有草酸、酒石酸、柠檬酸和延胡索酸以及含量相对較少的琥珀酸；成熟叶中只含有多量的琥珀酸和較少量的草酸。密植下側枝的嫩叶与成熟叶均含有較多量的草酸。旱地嫩叶中的延胡索酸明显較少，酒石酸与柠檬酸量也很微少。

2. 不同桑叶飼与区蚕粪中的游离有机酸　蚕儿吃了不同类型的桑叶，由于桑叶中含有的有机酸不同，也影响到蚕粪內游离有机酸的份量。从图2可知，五龄第四日

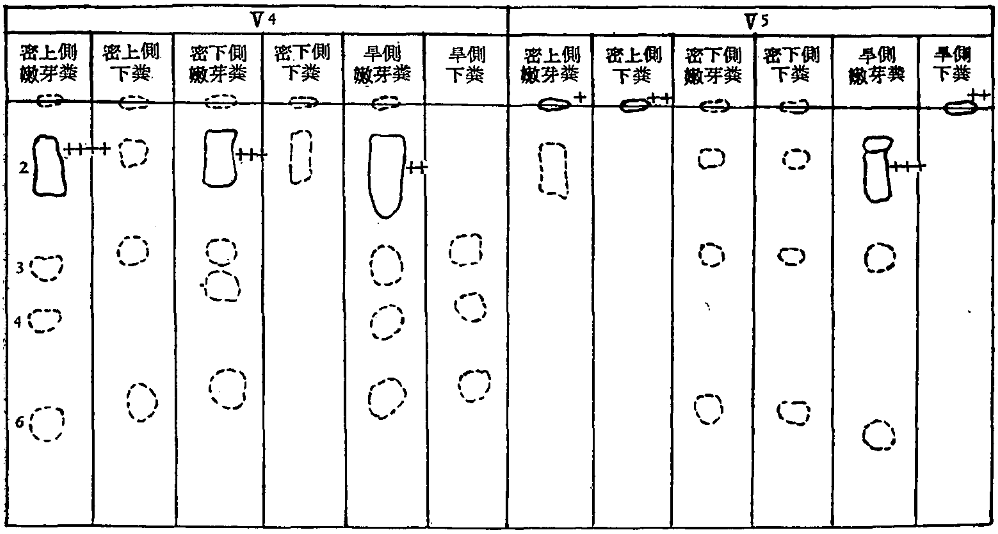

图 2　不同桑叶飼与区蚕粪中的游离有机酸(各种酸的号数識别与图 1 相同)

(V4) 各嫩叶飼与区蚕粪中均含有显著多量的草酸;而成熟叶飼与区中都很微少，甚至未出現。五龄第五日 (V5)，除了旱側嫩芽区蚕粪中仍发現有多量的草酸以外,密植桑嫩叶区蚕粪中的草酸显著減少。由此説明,旱側嫩芽区的生命力之所以較高,这与蚕粪中能排出多量的草酸有联系;而密植桑嫩叶区的蚕生命力显著較低,也与其蚕粪排草酸能力減弱有关。蚕粪中除草酸外,尙发現有微量的酒石酸、柠檬酸和琥珀酸。

3. 不同桑叶飼与区蚕儿胃液中的游离有机酸　蚕儿胃液中一般沒有或者仅含有少量的草酸,草酸的含量依据飼料中有机酸的成分而轉移。图 3 表明,五龄第四日,密植桑嫩叶区的胃液中,开始出現少量的草酸,其他飼与区沒有。五龄第五日，密植桑嫩叶区的草酸含量显著增多,这与蚕粪中排出的草酸量較少有密切关系；普通桑嫩叶区,由于蚕粪中排出的草酸較多，留存在胃液中的草酸含量則很少。因而,密植桑嫩叶区的蚕生命力低弱,也与胃液中含較多量的草酸有关。

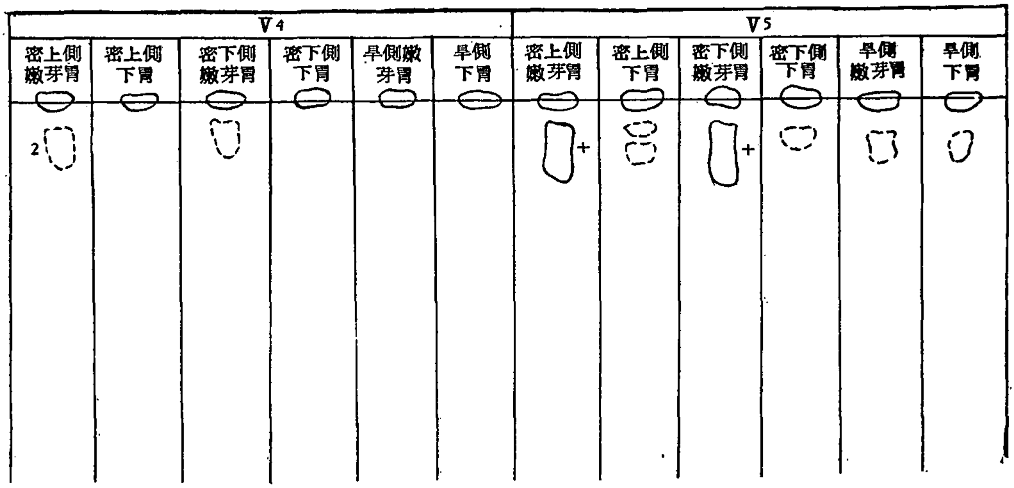

图 3　不同桑叶飼与区胃液中的草酸(2)

4. 不同桑叶飼与区蚕儿血液中的游离有机酸　蚕儿血液中的有机酸，乃是蚕儿本身由糖元酵解的中間产物。因此，血液中的有机酸受飼料中有机酸的影响不很直接和明显。

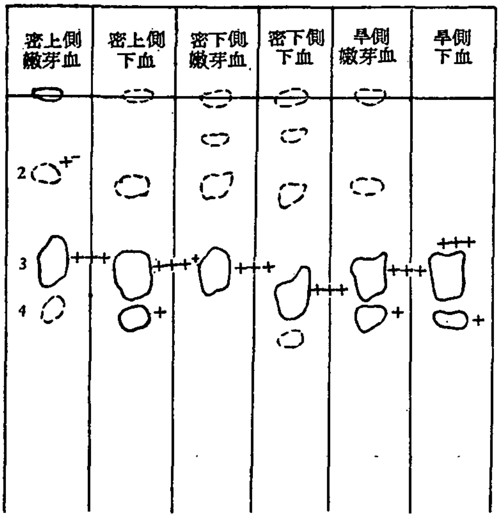

图 4　不同桑叶飼与区蚕儿血液中的有机酸
2 草酸；3 檸檬酸；4 苹果酸。

从图 4 中看到，蚕儿血液中主要含有柠檬酸、苹果酸和草酸，其中以柠檬酸含量为最多。在不同桑叶飼与的情况下，血液中的有机酸仍較稳定，沒有很大的差异。但发現密植桑嫩叶区血液中的苹果酸略有減少的傾向，在病蚕血液中甚至缺少苹果酸。普通桑嫩叶区血液中的苹果酸較多(＋)，与其成熟叶区差不多。由此可以認为，蚕儿血液中的苹果酸与蚕体健康程度有着一定的联系。

5. 桑叶与蚕体内的有机酸与 pH 的相关联系　桑叶与蚕体内 pH 的变化規律已經作了很多的研究。桑叶的 pH 依据其成熟程度而轉移。桑叶的 pH 值可以影响蚕体內的 pH。蚕儿消化液的 pH 值与杀菌力有密切关系。通过上述有机酸在桑叶与蚕体内消长关系的研究，可以闡明有机酸是左右 pH 值变化的一个主要成分。茲将pH 值的資料引証于表 2。

表 2　桑叶与蚕体内的 pH 值

測定样品	龄　日	密上側嫩芽区	密上側下区	密下側嫩芽区	密下側下区	旱側嫩芽区	旱側下区
桑　叶 pH	—	6.70	7.50	6.80	7.10	6.80	7.20
蚕　粪 pH	V4	6.65	6.85	6.80	7.00	6.30	6.90
蚕　粪 pH	V5	6.50	7.25	6.90	7.05	6.35	6.90
蚕儿胃液 pH	V4	8.50	8.90	8.55	8.90	8.80	8.80
蚕儿胃液 pH	V5	8.05	8.55	8.20	8.55	8.40	8.45
蚕儿血液 pH	V4	6.35	6.35	6.35	6.30	6.30	6.25
蚕儿血液 pH	V5	6.30	6.20	6.26	6.10	6.15	6.15

由表 2 中可知，桑叶 pH 可以直接影响蚕粪、蚕儿胃液与血液的 pH。蚕儿食了偏酸性的軟嫩叶，先在蚕粪中反映出弱酸性（pH 7 → pH 6.5），进而使胃液中的碱度減弱(pH 8.9 → pH 8.5)，最終使血液由弱酸性略趋向于中性（pH 6.1 → pH 6.3)。这些 pH 值的变化規律与上述有机酸的消长規律是完全一致的。嫩叶中 pH 偏酸性与含有多种有机酸有关；蚕粪中偏酸性与含有多量的草酸有关；胃液碱度下降与草酸的出現是相一致的；蚕儿血液 pH 略升可能与苹果酸的減少有关联。

(二)桑叶与蚕体内游离氨基酸的消长关系

1. 不同类型桑叶中的游离氨基酸　桑叶中发現有：胱氨酸、賴氨酸、組氨酸、天門冬酰胺、絲氨酸、天門冬氨酸、甘氨酸、苏氨酸、谷氨酸、丙氨酸、酪氨酸、纈氨酸、苯丙氨酸以及亮氨酸等，間或出現脯氨酸、羥脯氨酸和谷氨酰胺。桑叶中的游离氨基酸含量依据其成熟

程度而轉移。玆将不同类型桑叶中的游离氨基酸含量列于表 3。

表 3　不同类型桑叶中的游离氨基酸含量

100 毫克桑叶鮮样中含微克量。*系以丙氨酸标准量表示，以下类同

氨　基　酸	密上側嫩芽叶	密上側中　叶	密上側下　叶	密下側嫩芽叶	密下側下　叶	旱　側嫩芽叶	旱側下叶
桑叶含水分%	79.8	75.5	74.0	81.6	80.7	79.5	69.6
胱氨酸＋賴氨酸＋組氨酸*	102	43.5	—	81	42	85.5	42
天門冬酰胺*	45	28.5	—	60	34.5	42	34.5
絲氨酸＋天門冬氨酸＋甘氨酸	400.5	108	72	343.5	220.5	306	232.5
苏氨酸＋谷氨酸	109.5	24	—	99	54	60	55.5
丙氨酸	145.5	42	22.5	91.5	43.5	51	70.5
酪氨酸	12	6	—	7.5	9	13.5	16.5
纈氨酸	21	7.5	6	10.5	10.5	6	7.5
苯丙氨酸	9	9	—	12	10.5	7.5	10.5
亮氨酸	39	18	—	18	10.5	25.5	27
总氨基酸量	883.5	286.5	94.5	723.0	435.0	597.0	496.5

从表 3 中看出，桑叶中的游离氨基酸含量，随着桑叶的成熟程度而減少。嫩叶中的氨基酸含量普遍較成熟叶为多，其中除了酪氨酸、纈氨酸、苯丙氨酸和亮氨酸不甚明显以外，其他各种氨基酸均較显著，特别是天門冬氨酸 ＋ 絲氨酸 ＋ 甘氨酸以及谷氨酸 ＋ 苏氨酸更为突出。不同成熟度桑叶中的氨基酸含量的差异，以密植上側枝桑为最大，密植下側枝桑次之，旱地普通桑的差异較小。但是，桑叶中的游离氨基酸含量仍因各造而略有不同。

2. 不同桑叶飼与区蚕粪中的游离氨基酸　蚕粪中的游离氨基酸含量取决于飼料中的氨基酸含量。嫩叶区的蚕粪中含有多量的氨基酸；而成熟叶区蚕粪中的氨基酸，微少得几乎沒有（第 4—5 造二次重复結果均一致）。成熟叶区蚕粪中氨基酸的缺乏，表明蚕儿吸收了飼料中的部分氨基酸；嫩叶中由于氨基酸过多，故从蚕粪中排出吸收后剩余的氨基酸。在蚕粪中，氨基酸的含量均較飼料中相应減少，其中尤以酪氨酸与丙氨酸減少得較为明显，除了个别以外，各处理区几乎沒有发現这两种氨基酸。玆将其結果列于表 4。

表 4　不同桑叶飼与区蚕糞 (V4) 中的游离氨基酸量

100 毫克鮮样中含微克量，*同前

氨　基　酸	密上側嫩芽区	密上側下区	密下側嫩芽区	密下側下区	旱側嫩芽区	旱側下区
組氨酸＋精氨酸*	12	—	10	—	—	—
天門冬酰胺*	12	—	14	—	18	—
絲氨酸＋天門冬氨酸＋甘氨酸	96	—	100	—	60	—
苏氨酸＋谷氨酸	92	—	80	—	20	—
丙氨酸	—	—	18	—	—	—
酪氨酸	—	—	—	—	—	—
纈氨酸	8	—	10	—	6	—
苯丙氨酸	12	—	6	—	—	—
亮氨酸	14	—	24	—	—	—
总氨酸量	246	—	262	—	104	—

3. 不同桑叶飼与区蚕儿胃液中的游离氨基酸　蚕儿胃液中的游离氨基酸，一方面来

自飼料中的游离氨基酸；另一方面由飼料中的蛋白質經胃液中的蛋白酶水解而获得。因而,分析桑叶中的游离氨基酸对蚕儿胃液中含量的影响程度,便比較复杂。即令如此，我們仍可以从表 5 中看出，桑叶与胃液中的游离氨基酸含量存在着一定程度的正相关，嫩叶区胃液中的氨基酸含量一般均較成熟叶区为多,但它們之間的差异沒有飼料那样显著。从成熟叶区胃液中氨基酸含量說明，蚕体內所需要的氨基酸主要还是从飼料中水解蛋白質方面摄取。胃液中氨基酸含量的消长規律与蚕生命力之間沒有相关的联系。因而，嫩叶中含有多量的氨基酸并不是影响蚕儿健康程度的主要因素。

V4 旱側下区的胃液氨基酸含量特别少,其原因不明,尙需进一步研究。

表 5　不同桑叶飼与区蚕儿胃液 (V4) 中的氨基酸量

0.1 毫升胃液含微克量,*同前

氨　基　酸	密上側嫩芽区	密上側下区	密下側嫩芽区	密下側下区	旱側嫩芽区	旱側下区
胱氨酸+賴氨酸*	34	26	46	30	54	14
組氨酸+精氨酸*	56	34	60	52	62	34
絲氨酸+天門冬氨酸+甘氨酸	286	240	384	346	394	144
苏氨酸+谷氨酸	120	72	190	100	172	52
丙氨酸	21	14	38	22	38	18
酪氨酸	12	14	16	16	30	8
纈氨酸	12	8	16	12	18	16
苯丙氨酸	8	10	16	14	18	14
亮氨酸	14	10	20	20	8	8
总氨酸量	563	428	786	612	794	308

4. 不同桑叶飼与区蚕儿血液中的游离氨基酸

表 6　不同桑叶飼与区血液中 (V4) 的氨基酸含量

0.1 毫升血液中含微克量,*同前

氨　基　酸	密上側嫩芽区	密上側下区	密下側嫩芽区	密下側下区	旱側嫩芽区	旱側下区
組氨酸*	50	38	44	89	130	94
精氨酸*	8	15	15	14	17	25
絲氨酸+天門冬氨酸+甘氨酸	155	207	182	160	204	162
苏氨酸+谷氨酸	26	22	12	—	10	6
丙氨酸	6	6	6	4	5	5
酪氨酸	6	—	2	4	3	4
纈氨酸	4	—	3	2	4	4
苯丙氨酸	7	5	8	7	5	9
亮氨酸	7	5	7	5	2	2
总氨酸量	269	298	279	285	380	311

由于蚕儿消化液中蛋白酶水解和胃壁組織的滲透吸收作用，蚕儿血液中的游离氨基酸含量相对較为稳定。如表 6 中指出，五龄第四日各飼与区之間的血液总氨基酸量一般沒有显著的差异,不同成熟程度桑叶飼与区之間沒有一致的消长規律,說明桑叶中氨基酸量的多寡对蚕儿血液中的氨基酸量沒有直接的相关影响。普通桑飼与区血液中的总氨基酸量,較之密植桑飼与区为多,主要是其中組氨酸和精氨酸較多。

5. 病蚕胃液与血液中的游离氨基酸　第四造(六月)，在各类型桑叶飼与区中，分别病蚕与正常蚕，测定了蚕体內胃液和血液中的游离氨基酸含量，結果如表 7 与表 8。

表 7　病蚕与正常蚕胃液 (V5) 中的游离氨基酸量

0.1 毫升胃液中含微克量，*同前

氨　基　酸	密主嫩区		密側嫩区		密成熟叶区	
	病　蚕	正常蚕	病　蚕	正常蚕	病　蚕	正常蚕
胱氨酸＋賴氨酸*	28	22	40	26	16	30
組氨酸＋精氨酸*	28	20	28	28	16	26
絲氨酸＋天門冬氨酸＋甘氨酸	248	288	144	286	90	286
苏氨酸＋谷氨酸	76	108	72	44	40	52
丙氨酸	28	28	24	12	16	18
酪氨酸	36	28	26	18	16	26
纈氨酸	28	18	18	12	12	16
苯丙氨酸	40	20	20	10	14	16
亮氨酸	36	26	28	14	22	14
总氨酸量	548	558	400	450	242	484

表 8　病蚕与正常蚕血液 (V5) 中的游离氨基酸含量

0.1 毫升血液中含微克量，*同前

氨　基　酸	密主嫩区		密側嫩区		密成熟叶区	
	病　蚕	正常蚕	病　蚕	正常蚕	病　蚕	正常蚕
組氨酸＋精氨酸*	130	151	134	169	83	120
絲氨酸＋天門冬氨酸＋甘氨酸	274	294	294	336	197	302
谷氨酸＋苏氨酸	40	49	30	40	30	40
丙氨酸	12	18	12	13	14	18
酪氨酸	6	20	9	10	8	13
纈氨酸	9	24	14	9	14	7
苯丙氨酸	8	12	16	9	16	8
亮氨酸	23	23	17	14	14	16
总氨酸量	502	591	526	600	376	524

病蚕胃液中的氨基酸总量，較之正常蚕为少，这可以从表 7 中看到。但是，由于飼料中游离氨基酸量的干扰，这种差异程度便受到很大的影响。例如，軟嫩叶含氨基酸量多，軟嫩叶区病蚕与正常蚕之間的差异程度显著縮小，几乎相近似；而成熟叶含氨基酸量少，其病蚕胃液中的氨基酸量显然減少。病蚕胃液中游离氨基酸的減少，主要是由消化液中蛋白酶水解工作的減弱而引起的。病蚕胃液中氨基酸量減少得最多的是絲氨酸 ＋ 天門冬氨酸 ＋ 甘氨酸組，而这些氨基酸在正常蚕胃液中的含量均保持十分稳定的水平。其他氨基酸，除亮氨酸外，病蚕胃液中的含量也略有減少。

病蚕血液中的游离氨基酸，同样較之正常蚕为少，其中以組氨酸 ＋ 精氨酸和絲氨酸 ＋ 天門冬氨酸 ＋ 甘氨酸二个混合氨基酸組的含量減少較多。其他如谷氨酸 ＋ 苏氨酸、丙氨酸、酪氨酸也略有降低的傾向。蚕儿血液中的氨基酸主要从胃液中吸收获得，因而，血液中的氨基酸含量取决于胃液中可吸收利用的氨基酸量和胃壁組織的吸收能力。病蚕

血液中的氨基酸量的減少，同样也反映了病蚕胃液中可吸收利用的氨基酸不够充裕。例如，成熟叶区病蚕胃液中的总氨基酸量最少，在其血液中的总氨基酸量也相应地最低。

从病蚕胃液和血液中游离氨基酸含量減少这一点看来，軟嫩叶中含有多量的游离氨基酸，对蚕儿的健康程度可能并无直接的影响。

（三）桑叶与蚕体內糖的消长关系

1. 不同类型桑叶中的糖　桑叶中的醣是光合作用的产物，它的含量伴随着桑叶的成熟程度而增加。桑叶中发現有蔗糖、葡萄糖、果糖、鼠李糖以及若干寡糖类，間或出現少量的阿拉伯糖和木糖。如图 5 与表 9 中指明，第五造（七月）桑叶中的糖，以蔗糖为最多，葡萄糖次之，果糖較少，鼠李糖更少。旱側下桑还出現較多量的寡糖类。桑叶中的含糖量还根据各造气候条件而有若干差异。軟嫩叶中的含糖量，不論是蔗糖、果糖或葡萄糖，均較成熟叶为少。密植桑的下側枝叶，由于处于树蔭之下，日照不足，故其含糖量均較低，但下側枝的成熟叶含糖量仍較其嫩叶为多。旱地普通桑的嫩叶，虽然含糖量較成熟叶低，但却較密植桑的嫩叶为多。

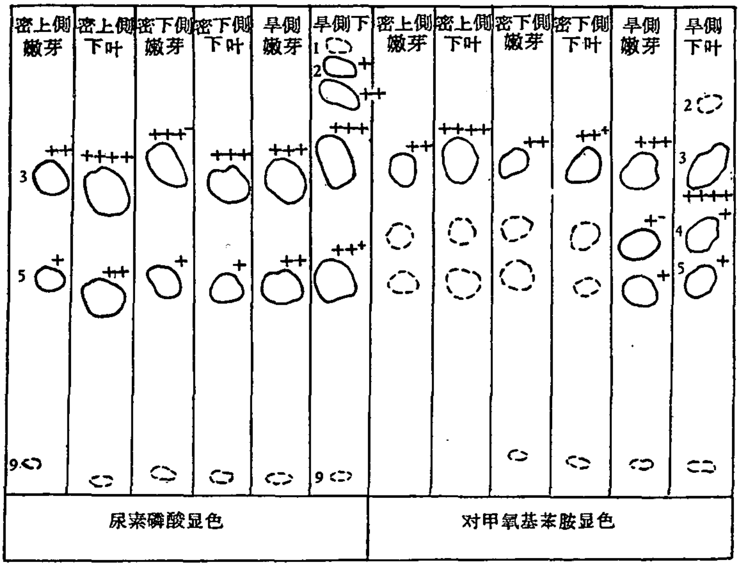

图 5　不同类型桑叶中的糖

1—2 寡糖类；3 蔗糖；4 葡萄糖；5 果糖；9 鼠李糖。

表 9　不同类型桑叶中的含糖量

1 毫克桑叶鮮样中含微克量

糖　类	密上側嫩芽叶	密上側中叶	密上側下叶	密下側嫩芽叶	密下側下叶	旱側嫩芽叶	旱側下叶
蔗　糖	16.4	30.0	22.4	9.2	13.6	15.6	26.0
葡萄糖	4.4	5.6	5.6	6.8	6.8	7.2	10.4
果　糖	—	1.0	1.0	—	0.4	1.2	4.4
合　計	20.8	36.6	29.0	16.0	20.8	24.0	40.8

2. 不同桑叶飼与区蚕粪中的总糖　由于桑叶中的糖分經过蚕体吸收以后，在蚕粪中殘留的糖量很少。因而，在紙上层析时，便不容易发現像蔗糖、果糖以及葡萄糖这些为蚕

体所必需的糖类(伊藤，1960；堀江，1961)。通过对五龄期各日蚕粪中含总糖量的测定(表10),可以清楚地看出,嫩叶飼与区蚕粪中的总糖量較低于成熟叶区；而旱地普通桑飼与区的蚕粪总糖量則显著高于密植桑飼与区，特别是密植桑下側枝区的蚕粪总糖量更加低。从这些消长关系中表明了密植桑飼与区蚕体內含糖量的不足，也表明了蚕粪总糖量与其飼料中糖分的含量成正相关的密切联系。

表 10　不同桑叶飼与区蚕糞中的总糖量

1毫克蚕粪鮮样中含微克量，以葡萄糖表示

五龄总糖量	密上側嫩芽区	密上側下区	密下側嫩芽区	密下側下区	旱側嫩芽区	旱側下区
V4	3.4	6.6	5.4	5.8	10.0	12.0
V5	3.6	3.6	3.0	3.4	5.0	6.8
平　均	3.5	5.1	4.2	4.6	7.5	9.4

3. 不同桑叶飼与区蚕儿胃液中的糖　蚕儿胃液中的糖分，包括飼料中的单糖和双糖类，也包括飼料中多糖类經胃液醣酶水解的糖类。在高度浓縮浸提的条件下，仅层析出不多量的蔗糖。胃液中的总醣含量也很少。从图6与表11中看出,蚕儿胃液中的蔗糖量，依据其飼料含糖量而异。密植嫩叶飼与区的胃液中沒有发現蔗糖，而其成熟叶区中蔗糖量也非常少；普通桑飼与区胃液中的蔗糖量便比較多，尤其是成熟叶区更为显著。再从胃液中总糖量来分析,同样获得一致的結果,即成熟叶区的总醣量較嫩叶区为多；普通桑区較之密植桑区更加多。綜上所述,飼料中的含糖量与胃液含糖量有关，而胃液含糖量又与蚕体健康度密切相关。

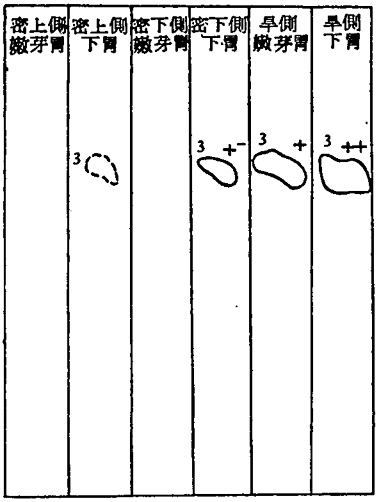

图6　不同桑叶飼与区蚕儿胃液(V4)中的糖层析譜(显色剂为尿素磷酸和对甲氧基苯胺) 3 蔗糖

4. 不同桑叶飼与区蚕儿与蛹蛾血液中的糖元

我們多次进行糖的层析,在我們的实驗条件下,血液中均沒有发現任何单糖或双糖。通过血糖含量的測定,結果(表12)表明，不同飼料的含糖量与蚕儿血液中的糖元含量具有显著的相关性。这种消长关系,不仅在蚕儿期存在,而且一直延續到蛹期和蛾期。从蚕儿期与蚕蛹蛾期的血糖含量来比較，成熟叶区的血糖量普遍高于軟嫩叶

表 11　不同桑叶飼与区蚕儿胃液含糖量

0.01毫升胃液中含微克量，总糖量以葡萄糖表示

糖类	五龄龄日	密上側嫩芽区	密上側下区	密下側嫩芽区	密下側下区	旱側嫩芽区	旱側下区
蔗糖	V4	—	0.7	—	0.2	0.9	1.3
总糖	V4	10	17	7	12	23	36
	V5	5	9	6	11	15	33
	平均	7.5	13	6.5	11.5	19	34.5

表 12　不同桑叶飼与区的血糖含量

0.01 毫升血液中含微克量，以葡萄糖表示

阶　段	日　順	密上側嫩芽区	密上側下区	密下側嫩芽区	密下側下区	旱側嫩芽区	旱側下区
五龄蚕	V3	81	111	72	88	113	133
	V4	36	61	52	63	76	74
	V5	23	61	45	65	70	76
	熟　蚕	36	37	36	35	46	46
蚕　蛹	第二日	38	48	37	48	67	58
	第五日	32*	52	45	41	52	46
蚕　蛾	第一日	43*	90	未測	未測	81	115
	第二日	32*	51	未測	未測	61	73
全期总平均		40.1	63.9	47.8	56.7	70.8	77.6

* 系♂性血糖量，其他蛹蛾均为♀♂平均。

区；普通桑区显著高于密植桑区。V4—V5，当密植桑軟嫩叶区大量发病时，其血液中的含糖量特别降低；而到了熟蚕阶段，熟蚕的血糖含量又趋于比較稳定状态。不同桑叶飼与区的血糖含量的这种規律，恰恰与其生命力的強弱完全吻合。可以确定，不同飼料的含糖量决定着蚕体的血糖量；而蚕体血糖量的多少，又是影响蚕儿健康程度的主要因素之一。

三、綜合討論

桑叶是蚕儿最合适的飼料，飼料中的生化成分对蚕的营养物質代謝起着决定性的作用。因而，飼料处理在养蚕技术中占有十分重要的地位。在养蚕生产实践中，特别在广东地区，蚕造甚不稳定，低产失收的現象累为常見。影响蚕造不稳定的因子固然是綜合的、多方面的，但可以肯定，桑叶品質的优劣确是一个不可忽視的重要因子。为了解决养蚕生产中这一个重大問題，不仅要掌握不同处理的飼料品質，包括桑树生长发育程度、气象环境条件以及栽培措施等各方面对养蚕安全程度的直接或間接的影响；而且，更重要的是需要进一步研究桑叶品質影响蚕儿生理机制的問題。只有找出了它們之間的內在联系，才能从根本上提出养好蚕的飼料处理的合理技术措施。

两年来的养蚕实驗結果証明，桑叶成熟程度是影响养蚕收成的一个主要方面。密植丰产桑的軟嫩叶会导致蚕儿大量发病，尤其是在广东第四至六造更为严重，誘发的病蚕率在 28.93—75.13% 范围內。病蚕絕大多数属軟化病，其中部分尙出現"叶質中毒症"。普通疏植桑嫩叶誘发蚕病的程度显著較輕。因而，不成熟的軟嫩叶对蚕儿生命力或多或少都有一定程度的危害性，特别是在肥丰水足和高度密植的栽培条件下更为严重。从我們所研究的桑叶与蚕体內有机酸、氨基酸以及糖的消长关系，可以說明不同成熟程度的桑叶影响蚕儿健康程度的某些原因。

蚕体內 pH 值的变化，可以反映出叶質影响蚕体內部生理机能的部分概况。軟嫩叶的 pH 偏弱酸性，蚕儿食后，蚕粪 pH 下降（pH 7 → pH 6.3），表明蚕体內正在排去酸性物質；进而在蚕儿消化道內由于嫩叶中酸性物質的逐漸积累，导致胃液 pH 及其緩冲指数的下降（pH 8.9 → pH 8.5）；最終也影响到血液緩冲指数的減弱和血液 pH 的略升（pH6.1 →

pH 6.3)。当蚕儿胃液 pH 減弱的同时，蚕儿健康程度便显著下降，蚕座中可明显地发現部分蚕儿患病。这与有間(1956)研究消化液与杀菌力的結果有关联。

通过我們对桑叶与蚕体內有机酸消长关系的研究，認为有机酸与 pH 值之間存在着密切的相关关系，有机酸是决定桑叶与蚕体內 pH 值变化的主要成分之一。蚕儿吃了有机酸較多的軟嫩叶，先通过蚕粪排出較多量的草酸；进而在蚕体胃液中累积出現較多量的草酸，蚕儿健康度便大大減弱；在血液中，苹果酸相对略为減少，但草酸却有略增的傾向，此时蚕儿便显著发病。苹果酸的減少可能与蚕体內三羧酸循环有关。从密植桑与普通桑嫩叶区蚕体內有机酸的消长对比中，我們感到，有机酸影响蚕儿健康程度的关鍵在于蚕粪中能不能将体內多余的草酸排泄出去。如能充分排去，就不会严重影响蚕儿胃液的 pH；否則，胃液中积累較多量的草酸，势必会減弱蚕的生命力。桑叶內所含的各种有机酸中，草酸、酒石酸和柠檬酸对蚕体的影响較大，人为地添食这些酸类能对消化作用起显著的抑制作用 (Платова)。延胡索酸也有若干不良的影响，因为对蚕儿生命力有危害影响的軟嫩叶中，均含有較多量的延胡索酸。琥珀酸在成熟叶中含有特别多，对蚕儿健康度不会有不良的影响。

飼料中的糖量直接影响蚕体內的营养积累和能量代謝。从我們的研究結果来看，桑叶中的糖量与蚕粪、胃液中的含糖量以及血液中的糖元量存在着十分明显的正相关关系。軟嫩叶中的蔗糖、葡萄糖以及果糖等含量显著較低，因而嫩叶飼与区的蚕儿胃液总糖量也相应較少，蚕粪中排出的糖量和血液中吸收的糖元量也随之減少。蚕体內含糖量的貧乏，便导致蚕儿体質的虛弱。由此可以确認，桑叶中的含糖量，是影响蚕儿健康程度的主要因素之一。

蚕体內醣的消化和吸收利用，也与消化液的 pH 值有关联，因为环境的酸碱度决定酶的水解工作 (庫玆浧佐夫 1948)。根据我們对蚕儿胃液中淀粉酶活性的研究結果(刘士賢等 1961)表明，当胃液 pH 下降时，淀粉酶的活性显著減弱，甚至临近水解停頓的程度，从而減弱了蚕体內对飼料中醣的消化能力，使得蚕体內吸收利用的糖量更加严重不足。

因此，軟嫩叶中的"酸多"和"糖少"二个因素，由于彼此間的相互作用，更加加剧了对蚕体健康度的危害程度。

桑叶中的游离氨基酸，随着桑叶的成熟程度而減少，这与桐村(1955)和近藤(1957)的研究結果是一致的。嫩叶中游离氨基酸多是构成非蛋白氮多的主要成分之一。蚕儿吃了含氨基酸多的軟嫩叶，蚕粪中排出大量的氨基酸，胃液中的游离氨基酸也略为較多；但在血液中的氨基酸含量則較为稳定，相差不大，同时与飼料中氨基酸含量沒有一致的相关規律。根据我們研究結果的分析，軟嫩叶中含有多量的氨基酸对蚕儿健康度并沒有不良的影响。但是，蚕体內氨基酸的含量与蚕儿健康度有关联，病蚕胃液与血液中的氨基酸含量相对減少，这与蚕体內消化吸收能力，特别是与蛋白酶水解工作有关。正当蚕体虛弱发病时，胃液中的类胰蛋白酶的活性显著減弱(刘士賢等，1961)。

綜合以上結果，在不良軟嫩叶誘发蚕儿罹病的过程中，其蚕体內引起了若干生理上的变化，玆概括于表 13 中。

找出了对蚕儿健康程度有危害影响的桑叶化学成分因素，便有可能使我們在飼料处理方面来控制桑叶中的有机酸和糖分含量，提出合理的养蚕技术措施，以保障蚕造的稳定

和丰产。

表 13 由軟嫩叶引起蚕儿发病的生理变化特征

五龄期阶段		少、中食期 V1—V3	盛食期 V4	临熟期 V5
外表特征		蚕体虛胖	发病 15% 左右	发病 40% 左右
pH	蚕粪	大量排酸性	排酸性減弱	排酸性減弱
	胃液	相对稳定	碱度下降	碱度显著下降
	血液	相对稳定	差异不大	酸度略为減弱
有机酸	蚕粪	大量草酸	草酸量減少	草酸量減少
	胃液	未发現有机酸	出現草酸	出現多量草酸
	血液	正常	正常	苹果酸減少
消化酶	胃液	活性正常	活性減弱	活性显著減弱
氨基酸	蚕粪	大量	大量	大量
	胃液	較多量	較多量	病蚕含量減少
	血液	相对稳定	相对稳定	病蚕含量減少
糖	蚕粪	較少	显著少	較 少
	胃液	較少	显著少	显著少
	血液	較少	显著少	显著少

参考文献

刘士賢、刘嫒娴、朱綺雯，1962。桑叶品質与养蚕的关系，广东蚕絲通訊，**4** (2—3): 20。

黃自然、刘士賢、方定坚，1962。紙上层析法研究桑叶中有机酸的消长規律，广东省植物学会 1962 年年会論文摘要，19 頁。

欽俊德，1962。植食性昆虫的食性和营养，昆虫学报，**11**(2): 169—85。

許嘉祥，1957。紙上层析法鉴定植物組織中的非揮发性有机酸，化学学报 *23*，*201*。

陈丽筠，1958。氨基酸的定量滤紙层析法 III，生化学报 **1**，№ 1，19。

庫兹湼佐夫 H. Я. (欽俊德譯)，1958。昆虫生理学基础，第一卷，科学出版社。

有間正三、須藤精一，1956。蚕儿消化液の杀菌作用に及ぼす盐基度の影响について，日本蚕絲学杂志，**25**，№ 3，207。

有間正三、坂本弘美、鵜泽隆，1957。叶質を异にして飼育した蚕儿の血液の pH について，日本蚕絲学杂志 **26**，(3)，234。

有間正三、渡边英昌、鵜泽隆，1958。桑叶の化学成分が蚕儿の強健性に及ぼす影响に关する考察（1—6），蚕絲界报 № 1—6。

吉田德太郎、松崎庆子，1955，1956。桑叶中に于ける有机酸とその蚕の生理に及ぼす影响について，(I) 日本蚕絲学杂志 **24**，(3)，191，(II) 同 上 **25**，(3)，229。

桐村二郎、鈴木直雄，1955。桑叶のアミノ酸含量について，日本蚕絲学杂志 **24**，(3)，182。

近藤义和，1957。桑叶の游离アミノ酸について，日本蚕絲学杂志 **26**，№ 5，349。

近藤义和、渡边忠雄，1957。家蚕游离アミノ酸について (II) 日本蚕絲学杂志 **26**，№ 4，298。

三好健胜，1959。軟化病蚕儿の生理学的研究 (I) 日本蚕絲学杂志 **28**，(2)，88。

柏田丰，1955。桑の炭水化物に关する研究 (II) 日本蚕絲学杂志 **24**，(2)，76。

伊藤智夫、田中三元，1960。蚕儿に对する糖の径口的給与の影响，日本蚕絲学杂志 **29**，№ 3，263。

堀江保宏，1961。家蚕消食管的生理研究 (III) 醣の吸收と利用，日本蚕絲試験場报告 **16**，№ 5，287。

Андреева Т. Ф., Коржева Г. Ф. 1961, Особенности образования аминокислот и белка в листьях растений прй фотосинтезе. *Физиология растений*, **8**, вып. 4: 441.

Гальцова Р., 1935, Активная реакция кишечного сока *Bombyx mori*. *Зоол. Жур.*, **XIII**, 186—194.

Демяновский С., Прокофьева Е. и Филиппова Л. 1933, Влияние степени зрелости листьев на жизнеспособность червей. и др. *Зоол. Жур*. **XII**: 3—32.

Демяновский С. Я., 1958, Некоторые итоги работы кафедры органической и биологической химий

по изучению биохимии и физиологии тутового и дубового шелкопряда. Уч. зап. Моск. гос. пед. ин-та, 140, 3—54.

Захарьин Ю. Л., 1958. К вопросу об определении гликогена в крови. *Биохимия*, **23**, вып. 3, 366.

Кретович В. Л., Пономарева А. Н., 1961. Участии аминокислот в реакции меланоидинообразования при выпечке хлеба. *Биохимия*, **26**, вып. 2, 237.

Магницкий К. П., Шугаров Ю. А. и Малков В. К., 1959. Новые методы анализа растений и почв. Сельхозгиз.

Павлинова О. А., 1956. Об участии инвертазы высщих растении в образовании олигосахаридов. *Физиология растений*, **3**, вып. 6, 539.

Павлинова О. А., 1957. Применение антрона для количественного определения сахаров, разделяемых на хроматограммых. *Физиология растений*, **4**, вып. 1, 98.

Павлинова О. А., 1960. В сб. "Хроматография, её теория и применение". Изд. АН СССР. 426—432.

Пасхина Т. С., 1955. Успехи в распределительной хроматографии на бумаге аминокислот и пептидов. Труды комиссии по анал. хим. том 6.

Петров-Спиридонов А. В., 1957. Хроматографические методы определения органических кислот в растениях. Известий ТСХА. 2: 230.

Филиппович Ю. Б., 1960. Значение изучения и пути исследования потребностей шелковичных червей и индивидуальных составных частях корма. "Тр. кафедры орган. и биол. химии Моск. гос. пед. ин-та им. В. И. Ленина" 10: 32.

Школьник Р. Я., 1953. Определение нелетучих органических кислот в растительных экстрактах методом бумажной хроматографии. Докл. АН СССР. том ХС, (5), 847.

Якушкина Е. П., 1958. Усвоение аминокислот корма гусеницами тутового шелкопряда. "Уч. зап. Моск. гос. пед. ин-та" 140: 231.

Bourdu R., Quillet M., 1953. C. R. Acad sci. 237, 1751.

Giri K. V., Radhakrishnan A. N., Vaidyanathan C. S., 1953. *J. Indian inst. sci.* A35, 145.

Mukherjee, Srivastava, 1952. *Nature* 169, 330.

Paitridge S. M., 1948. *Biochem. J.* 42, 238.

Williams K. T., 1951. *Gereal. chem. Bull.* 28, 416.

О СООТНОШЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ, АМИНОКИСЛОТ И САХАРОВ В ЛИСТЬЯХ ШЕЛКОВИЦЫ И В ОРГАНИЗМЕ ГУСЕНИЦ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Лю Ши-сянь, Фан Дин-цзянь, Хуан Цзы-цзюе
Хуан Чу-хуй и Чжу И-вэнь
(Академия сельскохозяйственных наук провинции Гуан-дуна)

При помощи метода хроматографии на бумаге было определено содержание свободных органических кислот, свободных аминокислот и сахаров в листьях шелковицы и в организме гусениц тутового шелкопряда, питающихся этими листьями в разной стадии их развития. На основании полученных нами данных был обсужден вопрос о возможном влиянии качества листьев на жизнеспособность гусениц тутового шелкопряда.

У молодых листьев было обнаружено большее количество шавелевой и фумаровой кислот и меньшее количество винной, лимонной и янтарной кислот. Присутствие фумаровой кислоты характерно для молодых листьев, тогда как старные листья характеризуются большим содержанием янтарной кислоты. Показано, что вышеуказанные содержающиеся в молодых листьях органические кислоты, кроме янтарной, явно оказывают неблагоприятное влияние на жизнеспособность червей.

Содержание сахаров в листьях шелковицы увеличивается по мере их развития. В молодых листьях содержается только небольшое количество сахарозы, глюкозы и фруктозы. В результате недостатка сахаров в корме, содержание сахаров в кишечном соке, а также содержание гликогена в гемолимфе гусеницы, куколки и бабочки шелкопряда соотвественно уменьшается. Оказалось, что недостаток сахаров в корме приводит к снижению жизнеспособности тутового шелкопряда.

Листья шелковицы содержают всего 14 видов свободных аминокислот. У молодых листьях содержается значительно большее количество аминокислот, чем у старых. Большое количество свободных аминокислот, содержающихся в молодых листьях, мало влияет на жизнеспособность тутового шелкопряда. У больных гусениц, однако, наблюдается снижение количества свободных аминокислот в кишечном соке и в гемолимфе.